

PERTANIAN

EFEKTIVITAS BEBERAPA ISOLAT *Pseudomonas fluorescens* UNTUK MENGENDALIKAN PATOGEN JAMUR *Rhizoctonia solani* PADA TANAMAN KEDELAI

Effectiveness of Multiple Isolates Pseudomonas Fluorescens For Controlling Pathogenic Fungus Rhizoctonia Solani In Soybean

Agung Wibisono, Abdul Majid*, Paniman Ashna Mihardjo

Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember (UNEJ)

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

*E-mail : Majidhpt@gmail.com

ABSTRACT

Rhizoctonia solani is one type of soil borne fungal pathogen which are difficult to control. This fungus can produce sclerotia which can survive in the soil for a long time. One of the safe control efforts is to use biological control agents include *P. fluorescens*. *P. fluorescens* is able to colonize and adapt well on the roots of plants. *P. fluorescens* using root exudates to synthesize metabolites that could inhibit the growth and activity of pathogens or inducing systemic resistance plant against pathogens. Each isolates of *P. fluorescens* isolated from different rhizosphere have different inhibitory effect. This study aims to determine the potential of some isolates *P. fluorescens* in controlling fungal pathogens *R. solani*. The methods used in this research using two steps, first step is *in-vitro* and Second step is *in-vivo* testing. *In-vitro* test using a completely randomized design (CRD) with one factor with three replications *in-vivo* test using a completely randomized design (CRD) two factors with three replications. There are 16 combinations with three replications. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA), followed by Duncan test 5%. The parameters were observed in the *in-vitro* test is calculating inhibition of *P. fluorescens* against pathogen *R. solani*, while the *in-vivo* test is calculating incidence of the disease, the intensity of the attacks and the rate of infection. Observation result *in-vitro* the most effective strains present in *P. fluorescens* strains 1 (77%). Next observation result is *in-vivo* the best strains of *P. fluorescens* found in strains 3, the value incidence of disease (27%), intensity of attack (20%), and rate of infection (0.045 units/day).

Keywords: Soybean; *P. fluorescens*; *R. solani*

ABSTRAK

Rhizoctonia solani merupakan salah satu jenis jamur patogen tular tanah (soil borne) yang sulit untuk dikendalikan. Jamur ini dapat menghasilkan sklerotia yang mampu bertahan di dalam tanah dalam jangka waktu lama. Salah satu upaya pengendalian yang aman adalah menggunakan agen pengendali hayati diantaranya adalah *P. fluorescens*. *P. fluorescens* mampu mengkoloni dan beradaptasi dengan baik pada akar tanaman. *P. fluorescens* menggunakan eksudat akar untuk mensintesis metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktifitas patogen atau menginduksi ketahanan sistemik tanaman terhadap patogen. Setiap isolat *P. Fluorescens* yang diisolasi dari rizosfer yang berbeda memiliki daya hambat yang berbeda beda pula. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi beberapa isolat *P. fluorescens* dalam mengendalikan patogen jamur *R. solani*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan dua tahap, tahap pertama yaitu uji *in-vitro* dan tahap kedua yaitu uji *in-vivo*. Uji *in-vitro* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan tiga kali ulangan, sedangkan uji *in-vivo* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor dengan tiga kali ulangan. Terdapat 16 kombinasi dengan tiga ulangan. Data dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA), dan dilanjutkan dengan Uji Duncan 5%. Parameter yang diamati untuk uji *in-vitro* yaitu menghitung daya hambat *P. fluorescens* terhadap patogen *R. solani*, untuk uji *in-vivo* yaitu menghitung Insidensi penyakit, intensitas serangan dan laju infeksi. Hasil pengamatan secara *in-vitro* strain yang paling efektif terdapat pada *P. fluorescens* strain 1 (77%). Hasil pengamatan selanjutnya secara *In-vivo* strain lebih efektif terdapat pada *P. fluorescens* strain 3 dengan nilai Insidensi Penyakit (27%), Intensitas Serangan (20%), dan Laju infeksi (0.045 unit/hari).

Keywords: Kedelai; *P. fluorescens*; *R. solani*

How to cite: Wibisono A., A. Majid, P.A. Mihardjo. 2014. Efektivitas Beberapa Isolat *Pseudomonas fluorescens* Untuk Mengendalikan Patogen Jamur *Rhizoctonia solani* Pada Tanaman Kedelai. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): xx-xx

PENDAHULUAN

Beberapa jenis patogen jamur dapat menjadi faktor pembatas pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman kedelai. Jamur *R. solani* merupakan salah satu patogen penyebab rebah kecambah dan busuk pangkal yang dapat menyebabkan kehilangan hasil kedelai sampai 40% (Djunaedy, 2008).

Rhizoctonia solani merupakan salah satu jenis jamur patogen tular tanah (soil borne) yang sulit untuk dikendalikan. Jamur ini dapat menghasilkan sklerotia yang mampu bertahan di dalam tanah dalam jangka waktu lama. Hal inilah yang menyebabkan pengendalian jamur *R. solani* dengan pestisida kimia kurang efektif. Oleh karena itu, diperlukan upaya pengendalian *R. solani* yang efektif.

Salah satu upaya pengendalian yang aman dan sesuai dengan konsep pertanian organik yang sehat dan ramah lingkungan adalah menggunakan agen pengendali hayati (Suwahyono dan Wahyudi, 2004), di antaranya adalah *P. fluorescens*. Pengendalian hayati menggunakan *P. fluorescens* telah diteliti efektivitasnya

oleh beberapa peneliti terhadap penekanan penyakit layu pada tanaman pisang dan krisan yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* (Djatinika, 1998), terhadap PLB (*Protocon Like Body*) yang disebabkan *R. solani* pada tanaman tomat serta tanaman kentang (Mulya, 1997; Aspiras & Angela, 1986) dan juga terhadap Penyakit layu pada tanaman murbei yang disebabkan oleh *P. solanacearum* (Nuraeni, 2007).

Sebagai agensia hayati, bakteri *P. fluorescens* mampu mengkoloni dan beradaptasi dengan baik pada akar tanaman. *P. fluorescens* menggunakan eksudat akar untuk mensintesis metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktifitas patogen atau menginduksi ketahanan sistemik tanaman terhadap patogen. Penelitian yang dilakukan oleh Hanudin *et al* (2009) menunjukkan setiap isolat *P. Fluorescens* yang diisolasi dari rizosfer krisan, cabai dan anyelir memiliki daya hambat yang berbeda beda. Hal tersebut diduga *P. fluorescens* yang diisolasi dari rizosfer krisan menghasilkan antibiotik yang lebih banyak

daripada *P. fluorescens* yang diisolasi dari rizosfer cabai dan anyelir.

Oleh karena itu, penelitian tentang efektivitas beberapa isolat *P. fluorescens* untuk mengendalikan patogen jamur *R. solani* pada tanaman kedelai perlu dilakukan, sehingga dapat digunakan sebagai dasar pemanfaatan agensia hayati yang lebih efektif dan aman lingkungan.

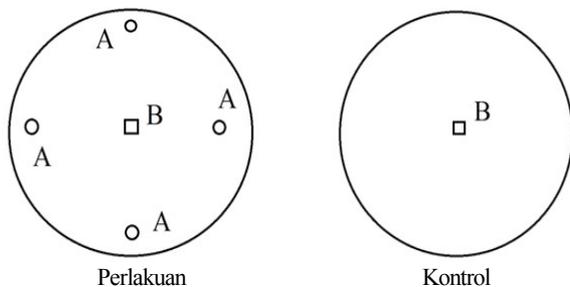
BAHAN DAN METODE

Isolasi Patogen. Isolat patogen *R. solani* diperoleh dari sklerotium yang terdapat di sekitar pertanaman kedelai yang terserang penyakit rebah kecambah. Selanjutnya sklerotium ditanam pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan diinkubasikan selama 3 hari. Miselium yang tumbuh dipindahkan ke petridish dan disubkultur beberapa kali untuk mendapatkan isolat murni. Identifikasi pertumbuhan miselium patogen dilakukan berdasarkan pengamatan mikroskopik dengan mengamati karakteristik miselium dan percabangan hifa di bawah mikroskop (Watanabe, 2002).

Peremajaan Bakteri Antagonis. Isolat *P. fluorescens* diperoleh dari koleksi Ir. Abdul Majid MP yang diremajakan selama 24-48 jam pada media King's B dan diidentifikasi menggunakan Uji Fluoresensi.

Pembuatan Suspensi Bakteri Antagonis *P. fluorescens*. Biakan bakteri *P. fluorescens* yang berumur 48 jam dibuat suspensi dengan cara menambahkan air steril sebanyak 10 ml pada biakan bakteri, kemudian menggosokkan ose pada permukaan media hingga bakteri terangkat dari media, setelah bakteri terangkat dari media lalu dituangkan ke tabung reaksi dan divorteks selama 1 menit. Suspensi yang telah jadi disimpan selama 1x24 jam sebelum diujikan.

Uji Antagonisme Bakteri Antagonis Terhadap Patogen. Pengujian bakteri antagonis *P. fluorescens* terhadap patogen jamur *R. solani* dilakukan pada media PDA. Kertas saring berdiameter 0,5 cm yang telah disterilkan dengan autoclave dimasukkan ke dalam suspensi bakteri pada masing-masing perlakuan selama 15 menit kemudian ditanam pada petridish yang berisi media PDA. Untuk patogen jamur *R. solani* cara pengambilannya dilakukan dengan menggunakan *cork borer* berdiameter 0,5 cm. Kedua isolat diletakkan seperti pada Gambar 3.1



Gambar 1. Sketsa uji antagonis bakteri *P. fluorescens* (A) terhadap patogen jamur *R. solani* (B) secara *in-vitro*

Pengamatan Uji Antagonisme Secara *In-vitro*. Pengamatan uji antagonisme dilakukan dengan membandingkan diameter jamur pada saat kontrol dengan jamur yang diberi perlakuan *P. fluorescens* kemudian dikalikan 100%. Pengamatan daya hambat dilakukan 2 HST dengan selang pengamatan 2 hari sekali.

$$Z = \frac{A - P}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

Z: Daya Hambat (%)

A: Diameter koloni *R. solani* pada kontrol

P: Diameter koloni *R. solani* pada perlakuan

Analisa Data. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), hasil

penelitian selanjutnya dianalisis menggunakan sidik ragam (ANOVA) dan dilakukan Uji duncan dengan taraf 5%.

Persiapan Media Tanam. Media tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah campuran dari tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1. Media dicampurkan hingga merata kemudian dimasukan kedalam plastik tahan panas untuk sterilisasi. Sterilisasi ini bertujuan untuk mematikan semua jenis mikroorganisme didalam media. Sterilisasi media dilakukan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121° C dengan tekanan 15 psi selama 30 menit, kemudian didinginkan hingga suhu ruang. Media yang telah steril kemudian dimasukan ke dalam plastik polibag ukuran 25 x 25 sebanyak ½ bagian ± 2 Kg media tanam.

Inokulasi Bakteri *P. fluorescens*. Bakteri *P. fluorescens* diinokulasikan dalam bentuk suspensi, suspensi yang telah dibuat dihitung kerapatan bakterinya terlebih dahulu menggunakan metode pour plate, dengan cara mengencerkan suspensi secara seri dari 10⁻¹ hingga 10⁻⁶ dengan menambah 1 ml suspensi kemudian ditambah 9 ml air steril dan divorteks selama 1 menit. Hasil pengenceran tersebut diambil 1 cc dan dituangkan ke petridish yang telah berisi media NA cair, kemudian petridish diputar secara perlahan untuk mengaduk campuran media NA dengan suspensi bakteri. Hasil campuran disimpan selama 24 jam kemudian dihitung jumlah koloni dengan menggunakan colony counter. Rumus yang digunakan untuk menghitung cfu:

$$CFU/ml = \sum \text{koloni} \times \text{faktor pengenceran} \text{ (Waluyo, 2008)}$$

Kepadatan populasi bakteri yang diinginkan yaitu ± 10⁷ CFU/ml per polybag, sedangkan faktor pengenceran adalah 10⁶ untuk memperoleh jumlah kepadatan populasi yang diinginkan, maka bakteri antagonis diaplikasikan dengan volume 10 ml/polybag.

Inokulasi Patogen *R. solani*. Inokulasi patogen *R. solani* dilakukan dengan dua tahap pertama meletakkan sklerotium ke dalam media sebanyak 10 sklerotium. Inokulasi patogen dilakukan bersamaan dengan tanam benih. Tahap kedua membuat suspensi *R. solani* menggunakan isolat murni sejumlah 5 petridish kemudian di campur dengan air ± 500 ml dan disemprotkan ke tanaman kedelai menggunakan sprayer penyemprotan dilakukan pada 18 hari setelah tanam.

Penanaman Benih. Sebelum benih ditanam media tanam disiram menggunakan gembor hingga lembab untuk memudahkan dalam penanaman. Benih yang akan ditanam sebelumnya dibuat benih berpilen dengan tanah sehingga memudahkan untuk aplikasi penanaman. Setiap media tanam mendapatkan lima benih dan di tanam di lima titik yang telah ditentukan dengan kedalaman ± 0,5 cm. Setelah penanaman benih diselesaikan selanjutnya media disiram kembali untuk merekatkan benih pada media.

Perawatan Bibit. Perawatan bibit dilakukan dengan cara penyiraman secara intensif sesuai kebutuhan selama 7 hari setelah tanam agar media tidak kekeringan. Setelah berumur 8 hari penyiraman disesuaikan dengan kebutuhan media dan bibit. Kegiatan penyiangan juga dilakukan apabila pada media terdapat gulma pengganggu.

Rancangan Percobaan. Tahap kedua uji *in-vivo* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor dengan tiga kali ulangan. Adapun faktor yang diteliti pada uji *in-vivo* adalah:

Faktor Pertama : (A) Patogen *R. solani*

A0 : Tanpa Patogen *R. solani*

A1 : Dengan Patogen *R. solani*

Faktor Kedua : (B) Bakteri Antagonis

B0 : Tanpa *P. fluorescens*

B1 : *P. fluorescens* Strain 1

B2 : *P. fluorescens* Strain 2

- B3 : *P. fluorescens* Strain 3
- B4 : *P. fluorescens* Strain 4
- B5 : *P. fluorescens* Strain 5
- B6 : *P. fluorescens* Strain 6
- B7 : *P. fluorescens* Strain 7

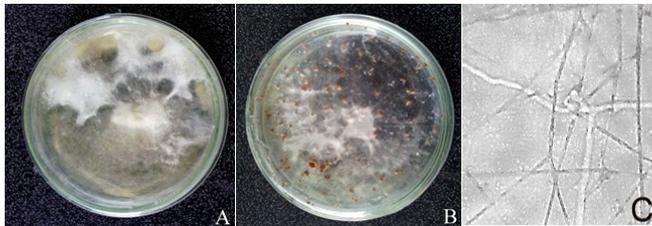
Denah penanaman polybag tanaman kedelai sebagai berikut :

A0B0U1	A1B0U3	A0B5U2
A1B6U1	A1B7U2	A1B5U1
A1B2U3	A1B3U1	A0B6U1
A1B1U1	A0B1U1	A1B3U2
A0B4U2	A0B0U2	A0B3U3
A0B6U2	A1B5U2	A0B2U1
A0B5U1	A1B6U2	A0B1U2
A1B4U3	A0B4U3	A1B7U3
A0B7U1	A0B2U2	A1B6U3
A0B1U3	A1B2U1	A1B0U1
A0B3U1	A0B7U2	A0B0U3
A1B5U3	A1B1U2	A1B2U2
A0B2U3	A0B5U3	A0B4U1
A1B0U2	A0B6U3	A1B4U2
A1B3U3	A1B4U1	A0B7U3
A1B7U1	A0B3U2	A1B1U3

Setiap plot diisi dengan 5 benih tanaman kedelai jadi total tanaman dalam 48 plot adalah 240 benih. Terdapat 16 kombinasi dengan tiga ulangan. Data dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA), dan dilanjutkan dengan Uji Duncan 5%.

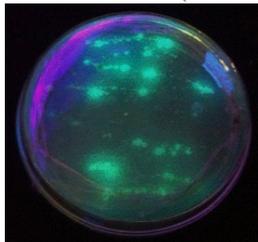
HASIL

Isolasi Patogen Jamur *R. solani*. Hasil isolasi jamur *R. solani* memiliki ciri-ciri: tidak membentuk konidia, hifa muda tidak berwarna, hifa dewasa berwarna putih hingga coklat kehitaman (Gambar 2 A). Hifa memiliki percabangan dengan sudut ± 90° (Gambar 2 C). Kumpulan hifa membentuk sklerotia yang mengumpul terpusat pada satu titik dan menyebar dikoloni. Apabila media PDA sudah mulai habis jamur *R. solani* akan membentuk sklerotium (Gambar 2 B).



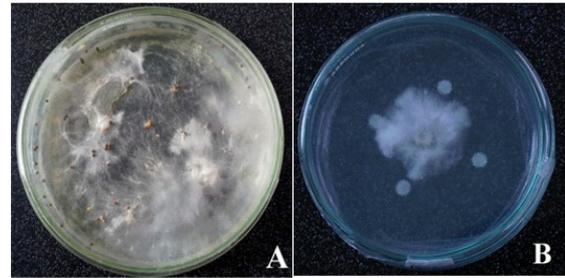
Gambar 2. Isolasi *R. solani* (A) Koloni *R.solani* yang belum membentuk Sklerotium, (B) Koloni *R.solani* yang membentuk sklerotium, (C) Percabangan hifa *R. solani* yang membentuk sudut 90° di bawah mikroskop (perbesaran 10x40).

Peremajaan Bakteri Antagonis *P. fluorescens*. Hasil Isolasi bakteri yang merupakan koleksi Ir. Abdul Majid MP *P. fluorescens* strain 1-7 yang memiliki ciri yang khas yaitu berpendar jika disinari oleh sinar UV (Gambar 4.2)



Gambar 3. Koloni *P. fluorescens* di bawah sinar UV

Tahap In-Vitro Uji Antagonisme Bakteri *P. fluorescens* Terhadap *R. solani*. Hasil uji antagonisme 7 isolat bakteri *P. fluorescens* terhadap *R. solani* menunjukkan adanya mekanisme penghambatan. Mekanisme penghambatan yang terjadi dapat dilihat pada (Gambar 4).



Gambar 4. Perbandingan hasil uji antagonisme antara perlakuan kontrol (A) sudah memenuhi petridish dan perlakuan *P. Fluorescens* (B) terdapat zona hambat pada umur 6 hari.

Tabel 1. Daya hambat *P. fluorescens* terhadap patogen *R. solani* pada media buatan

No	Perlakuan	Diameter	Daya Hambat (%)
1	PF1	1.60	77%
2	PF2	3.20	54%
3	PF3	6.53	6%
4	PF4	2.00	71%
5	PF5	4.07	42%
6	PF6	4.33	38%
7	PF7	4.57	34%
8	Kontrol	6.97	0%

Keterangan: Pf = *P. fluorescens*

Pada hasil pengamatan daya hambat Perlakuan Pf 1 menunjukkan daya hambat yang terbaik dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Tabel 2. Hasil perhitungan insidensi penyakit patogen *R. solani* pada tanaman kedelai.

Perlakuan	Perlakuan Hari ke-	
	18 Insidensi Penyakit (%)	28 Insidensi Penyakit (%)
A0B0	13.3 ab	20.0 ns
A0B1	6.7 b	6.7 ns
A0B2	6.7 b	60.0 ns
A0B3	6.7 b	20.0 ns
A0B4	6.7 b	26.7 ns
A0B5	6.7 b	6.7 ns
A0B6	0.0 b	13.3 ns
A0B7	0.0 b	20.0 ns
A1B0	20.0 a	53.3 ns
A1B1	6.7 b	40.0 ns
A1B2	0.0 b	46.7 ns
A1B3	6.7 b	26.7 ns
A1B4	0.0 b	40.0 ns
A1B5	6.7 b	60.0 ns
A1B6	0.0 b	26.7 ns
A1B7	13.3 ab	73.3 ns

Angka yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan hasil berbeda nyata pada uji Duncan Taraf 5%.

Pengamatan hari ke-18 (Tabel 2) terdapat tanaman yang mati sebanyak 15 dari total 240 benih yang ditanam. Nilai insidensi terbesar terdapat pada perlakuan A1B0 (20%), dan perlakuan A0B0 (13%), serta A1B7 (13%). Pengamatan insidensi penyakit hari ke-28 Nilai kematian tanaman kedelai terbanyak terdapat pada perlakuan A1 sebanyak 55 tanaman, sedangkan perlakuan A0 terdapat 26 tanaman mati. Nilai insidensi tertinggi terdapat pada perlakuan A1B7 sebanyak 73%.

Tabel 3. Hasil Perhitungan intensitas serangan patogen *R. solani* pada tanaman kedelai.

Perlakuan	Intensitas (%)
A0B0	30 c
A0B1	30 c
A0B2	52 abc
A0B3	18 c
A0B4	39 bc
A0B5	38 bc
A0B6	36 bc
A0B7	35 bc
A1B0	50 a
A1B1	38 bc
A1B2	40 bc
A1B3	20 c
A1B4	23 abc
A1B5	33 bc
A1B6	37 ab
A1B7	63 abc

Angka yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan hasil berbeda nyata pada uji Duncan Taraf 5%.

Tabel 3 menunjukkan hasil perhitungan intensitas serangan patogen *R. solani* pada tanaman kedelai. Intensitas tertinggi terdapat pada perlakuan A1B7 sebesar 63%, dan A0B2 sebesar 52%

Tabel 4. Hasil perhitungan Laju infeksi *R. solani* pada tanaman Kedelai

Perlakuan	Laju infeksi hari ke-28 (unit/hari)
A0B0	0.055 ab
A0B1	0.026 b
A0B2	0.219 ab
A0B3	0.080 ab
A0B4	0.106 ab
A0B5	0.055 b
A0B6	0.080 ab
A0B7	0.135 ab
A1B0	0.127 ab
A1B1	0.120 ab
A1B2	0.229 a
A1B3	0.135 ab
A1B4	0.175 ab
A1B5	0.226 ab
A1B6	0.190 ab
A1B7	0.185 ab

Angka yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan hasil berbeda nyata pada uji Duncan Taraf 5%.

Perhitungan laju infeksi tertinggi terdapat pada perlakuan A1B2 dengan nilai $r = 0.076$ unit/hari, A1B5 dengan nilai $r = 0.075$ unit/hari, dan perlakuan A0B2 dengan nilai $r = 0.073$ unit/hari, sedangkan nilai laju infeksi terendah terdapat pada perlakuan A0B1 nilai $r = 0.009$ unit/hari kemudian A0B0 nilai $r = 0.018$ unit/hari dan A0B5 nilai $r = 0.018$ unit/hari.

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil isolasi *R. solani* memiliki ciri-ciri: tidak membentuk konidia, hifa muda tidak berwarna, hifa dewasa berwarna putih hingga coklat kehitaman (Gambar 2 A). Hifa memiliki percabangan dengan sudut $\pm 90^\circ$ (Gambar 2 C). Kumpulan hifa membentuk sklerotia yang mengumpul terpusat pada satu titik dan menyebar dikoloni. Apabila media PDA sudah mulai habis jamur *R. solani* akan membentuk sklerotium (Gambar 2 B). Hal tersebut sesuai dengan pendapat Agrios (2004) dan Garcia *et al.* (2006) bahwa jamur *R. solani* memiliki ciri-ciri: tidak membentuk konidia, hifa muda tidak berwarna, hifa dewasa berwarna putih, hingga coklat kehitaman, panjang hifa 8-12 μm , memiliki septa. Hifa biasanya membentuk percabangan dengan sudut 90°C . Kumpulan hifa membentuk sklerotia yang mengumpul terpusat pada satu titik dan menyebar dikoloni. Apabila media PDA sudah mulai habis jamur *R. solani* akan membentuk sklerotium. Menurut Agrios (1997) sklerotium berperan sebagai alat bertahanannya jamur karena memiliki sifat yang sangat tahan terhadap lingkungan yang tidak mendukung.

Hasil pengamatan isolat bakteri antagonis yang diperoleh dari koleksi Laboratorium menunjukkan pendaran berwarna hijau setelah dilakukan uji fluoresensi menggunakan sinar UV. Hal ini sesuai dengan Soesanto (2008) yang menyatakan bahwa *P. fluorescens* mengeluarkan pigmen hijau, merah hijau, merah jambu, dan kuning terutama pada medium yang kekurangan unsur besi. *P. fluorescens* membentuk pigmen berpendar yang dikenal dengan nama *fluorescein*.

Untuk mekanisme penghambatan *P. fluorescens* menurut Kurniawan (1996) dalam Mihardjo (2008) aktifitas bakteri antagonis *P. fluorescens* dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen dalam media biakan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengambil unsur besi dari media dengan membentuk kompleks besi pigmen.

Hasil pengamatan daya hambat *P. fluorescens* terhadap *R. solani* (Tabel 1) daya hambat terbesar ditunjukkan pada perlakuan PF1 yaitu 77% dan PF4 71% sedangkan perlakuan pf 3 menunjukkan daya hambat terkecil yakni 6 %. Menurut BPTP (2005) uji daya hambat yang memberikan gambaran kualitas produk agen hayati sebagai standar produk yang baik adalah mempunyai kemampuan penghambatan $\geq 70\%$ secara *in-vitro*.

Walaupun Strain Pf 1 terbaik dalam Uji Antagonisme secara *in-vitro* belum tentu dalam pengaplikasian di lapang menunjukkan hasil yang sama. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Cook and Baker (1983) menyatakan bahwa pengujian secara *In-vitro* seringkali memberikan hasil yang berbeda ketika diaplikasikan di lapang dipengaruhi oleh isolat antagonis yang digunakan, patogen, dan lingkungan.

Pengamatan hari ke-18 (Tabel 2) terdapat tanaman yang mati sebanyak 15 dari total 240 benih yang ditanam. Nilai insidensi terbesar terdapat pada perlakuan perlakuan A1B0 (20%), dan perlakuan tanpa A0B0 (13%), serta A1B7(13%). Tingginya nilai insidensi pada perlakuan A1B7 dikarenakan kemampuan menghambat PF 7 belum mampu bersaing dengan *R. solani* yang diaplikasikan.

Pada perlakuan insidensi tanpa *R. solani* dan pengaplikasian *R. solani* terdapat tanaman mati sebanyak 7%. Hal yang menyebabkan terjadinya insidensi pada perlakuan tanpa RS, diduga karena ketika menanam benih terlalu dalam, daya tumbuh dari benih itu sendiri, dan benih tersebut sudah membawa penyakit *R. solani*. Menurut Sadjad (1980) Daya berkecambah (viabilitas) dan kekuatan tumbuh (vigor) merupakan salah satu

komponen dari mutu benih (selain, kemurnian dan kadar air). Informasi tentang daya kecambah benih yang ditentukan di laboratorium adalah pada kondisi yang optimum. Padahal kondisi di lapang yang sebenarnya sangat beraneka ragam dan jarang didapati berada pada keadaan yang optimum. Keadaan sub optimum yang tidak menguntungkan di lapangan tersebut dapat menambah segi kelemahan benih dan mengakibatkan turunnya persentase perkecambahan serta lemahnya pertumbuhan selanjutnya.

Nilai kematian tanaman kedelai terbanyak terdapat pada perlakuan *R. solani* sebanyak 55 tanaman, sedangkan perlakuan tanpa *R. solani* terdapat 26 tanaman mati. Nilai insidensi tertinggi terdapat pada perlakuan A1B7 sebanyak 73%. Hal tersebut menunjukkan strain *P. fluorescens* Strain 7 tidak mampu menghambat perkembangan *R. solani*, kemudian pada perlakuan tanpa A1B2 sebanyak 60%. Penyebab tingginya nilai insidensi pada perlakuan tanpa A1B2 dipicu oleh berbagai hal, antara lain spora *R. solani* ketika dilakukan pengaplikasian secara semprot diduga mengarah ke plot perlakuan tanpa A1B2, dan juga dapat dipicu oleh melemahnya bakteri yang terdapat pada perlakuan tanpa A1B2, sehingga ketahanan tanaman mulai berkurang. Untuk nilai insidensi terkecil dari perlakuan pakai *R. solani* terdapat pada A1B3 27% dan A1B6 27%, jika di bandingkan dengan perlakuan lain A1B3 dan A1B6 ini memiliki ketahanan yang stabil.

Hasil perhitungan intensitas serangan patogen *R. solani* pada tanaman kedelai dapat dilihat pada tabel 3. Intensitas tertinggi terdapat pada perlakuan A1B7 sebesar 63%, dan A0B2 sebesar 52%. Penyebab tingginya intensitas serangan pada perlakuan A0B2 dikarenakan spora yang disemprot diduga mengarah ke perlakuan A0B2 akibat adanya faktor yang mempengaruhi misalnya angin, serangga, dan manusia menurut Yunasfi (2002) penyebaran sebagian besar jamur patogenik tumbuhan dari suatu tumbuhan yang sama bergantung pada kesempatan penyebaran oleh agensia-agensia seperti angin, air, burung, serangga, hewan lain serta manusia. Angin merupakan agensia penyebaran spora yang paling penting dari sebagian besar jenis jamur, serta angin dapat membawa spora dengan jarak yang jauh. Untuk perlakuan A1B7 besarnya nilai insidensi dikarenakan PF 7 yang diaplikasikan tidak dapat menghambat serangan dari *R. solani*. Perlakuan yang memiliki nilai intensitas terkecil terdapat pada perlakuan A0B3 18% dan A1B3 20%.



Gambar 4. Perbandingan akar dan polong tanaman kedelai yang terserang *R. solani* dengan yang tidak terserang *R. solani* (A) Perakaran tanaman kedelai yang sehat, (B) Perakaran tanaman kedelai yang terserang *R. solani*, (C) Polong tanaman kedelai yang sehat, (D) Polong tanaman kedelai yang terserang *R. solani*

Gambar 4 menunjukkan perbedaan pada perakaran tanaman kedelai, pada perakaran tanaman kedelai sehat banyak ditemukan rhizobium dan banyak cabang – cabang akarnya, sedangkan pada perakaran tanaman kedelai yang terserang tidak ditemukan rhizobium sama sekali, cabang akar sangat sedikit, dan perakaran tampak lemas dan gampang patah. Menurut Widodo (1986)

kondisi akar tanaman yang lemas dapat menyebabkan penyumbatan jaringan xylem, sehingga pengangkutan air dan unsur hara ke bagian tanaman terhambat, dan terjadilah kelayuan atau kematian tanaman. Pada polong tanaman kedelai yang sehat warna polong tampak segar, sedangkan pada polong tanaman yang terserang warna polong kecoklatan dan kering.

Perhitungan laju infeksi tertinggi terdapat pada perlakuan A1B2 dengan nilai $r = 0.076$ unit/hari, A1B5 dengan nilai $r = 0.075$ unit/hari, dan perlakuan A0B2 dengan nilai $r = 0.073$ unit/hari, sedangkan nilai laju infeksi terendah terdapat pada perlakuan A0B1 nilai $r = 0.009$ unit/hari kemudian A0B0 nilai $r = 0.018$ unit/hari dan A0B5 nilai $r = 0.018$ unit/hari.

Menurut Oka (1993) cepat atau lambatnya laju infeksi terjadi apabila tanaman inang yang ditanam adalah tanaman inang yang rentan, patogen sangat agresif, dan cuaca sangat membantu, maka dengan cepat patogen tersebut akan menginfeksi tanaman lain yang masih sehat, artinya dalam waktu relatif pendek penyakit sudah memencar meliputi area yang luas. Sebaliknya bila yang ditanam adalah varietas yang tahan, sifat patogen tidak agresif, cuaca kurang membantu, patogen akan memerlukan waktu yang lebih lama untuk menginfeksi tanaman-tanaman yang masih sehat.

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada uji *In-vitro* strain yang paling berpotensi dalam menghambat *R. solani* adalah *P. fluorescens* strain 1 (77%), sedangkan uji *In-vivo* *P. fluorescens* strain 3 lebih efektif dalam mengendalikan *R. solani* dibandingkan dengan strain lainnya dengan nilai insidensi penyakit (27%), intensitas serangan (20%), dan laju infeksi (0.045 unit/hari).

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 1997. *Plant Pathology*. Ed ke-4. San Diego: Academic Press.
- Agrios, G.N. 2004. *Plant Pathology*. Fifth Edition. California : Elsevier Academic Press.
- Cook R.J. & K.F. Baker. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Patogens*. Minnesota: APS Press.
- Djatnika, I. 1998. Pengaruh *Pseudomonas fluorescens* Migula terhadap patogenesis *Fusarium oxysporum* Schelt pada tanaman krisan. *Jurnal Horikultura* 8(1) : 1014-1020.
- Djunaedy, A. 2008. Aplikasi fungisida sistemik dan pemanfaatan mikoriza dalam rangka pengendalian patogen tular tanah pada tanaman kedelai (*Glycine max L.*). *Embryo* 5 (2) : 149-157.
- Hamid, H. 2010. Pertumbuhan mikroorganisme <http://zai/bio.wordpress.com/2010/11/08/pertumbuhan-mikroorganisme/>. Diakses pada tanggal 24 Maret 2014.
- Hanudin, B. Marwoto., O. S. Gunawan. 2009. Penapisan beberapa isolat *P. fluorescens*, *Bacillus subtilis*, dan *Trichoderma harzianum* yang bersifat antagonistik terhadap *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang. *Jurnal Agrikultura* 20(3) : 198-203.
- Mihardjo, P.A. dan A. Majid. 2008. Pengendalian penyakit layu pada pisang dengan bakteri antagonis *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus Subtilis*. *Jurnal Pengendalian Hayati* (1): 26-31.
- Mulya, K. 1997. Penekanan perkembangan penyakit layu bakteri tomat oleh *P. fluorescens* PFG32. *Jurnal Hortikultura* 7 (2) : 685-691.
- Nuraeni, S. dan F. Abdul. 2007 Uji efektivitas bakteri antagonis *Pseudomonas fluorescens* dan *P. putida* untuk mengendalikan *P. solanacearum* penyebab penyakit layu pada tanaman murbei. *Jurnal Perennial* 3(2): 44-48.
- Oka, I. Nyoman. 1993. *Pengantar Epidemiologi Penyakit Tanaman*. Yogyakarta : Gajah Mada Univ. Press.

- Sadjad, S.1980. *Panduan Pembinaan Mutu Benih Tanaman Kehutanan di Indonesia*. IPB. 285 hal.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Jakarta : Penerbit Raja Grafindo Persada.
- Suwahyono dan Wahyudi, E. 2004. *Penggunaan Pestisida Nabati sebagai langkah menuju Pertanian Organik*. Yogyakarta : Kanisius.
- Watanabe, T. 2002. *Victorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species, 2nd Edition*. USA : CRC Press. 486p.
- Yunasfi. 2002. *Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Penyakit dan Penyakit yang Disebabkan Oleh Jamur*. Medan: Universitas Sumatera Utara Press..